




DEVICE AND METHOD FOR DETECTING SUBSTANCE**Publication number:** JP2001025465 (A)**Publication date:** 2001-01-30**Inventor(s):** V LILIENFELD-TOAL HERMANN**Applicant(s):** LILIENFELD TOAL HERMANN V**Classification:**

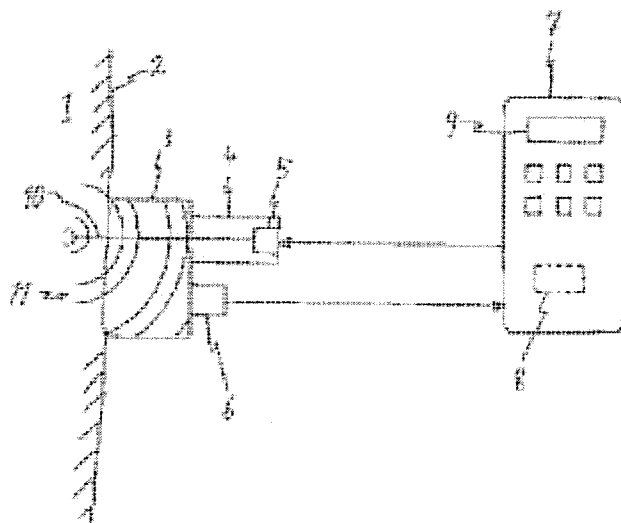
- international: *G01N29/00; A61B5/00; A61B5/145; A61B8/00; G01N21/00; G01N21/17; H01S5/34; G01N29/00; A61B5/00; A61B5/145; A61B8/00; G01N21/00; G01N21/17; H01S5/00; (IPC1-7): A61B5/145; A61B8/00; G01N21/00; G01N29/00; H01S5/34*

- European: A61B5/00R4; G01N21/17B

Application number: JP20000168256 20000427**Priority number(s):** DE19991019814 19990430; DE19991037528 19990809**Also published as:** JP3594534 (B2) EP1048265 (A1) US6484044 (B1)**Abstract of JP 2001025465 (A)**

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a simple and reliable device and method for detecting the noninvasiveness of a substance in a sample.

SOLUTION: In different ridges or valleys in an absorption spectrum of a substance in a sample, at each of at least two wavelengths, semiconductor lasers 4 and 5 to emit an intermediate infrared laser beam 10. Optoacoustic detectors 3 and 6 detect acoustic signals 11 produced from laser beam absorption. A display unit 7 evaluates separately acoustic signals for each wavelength and calculates the results of detection based on all acoustic signals from different wavelengths.

Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-25465

(P2001-25465A)

(43) 公開日 平成13年1月30日 (2001.1.30)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード [*] (参考)
A 6 1 B 5/145 8/00		A 6 1 B 5/14 8/00	3 1 0
G 0 1 N 21/00 29/00	5 0 1	G 0 1 N 21/00 29/00	A 5 0 1
H 0 1 S 5/34		H 0 1 S 5/34	

審査請求 有 請求項の数 8 O L 外国語出願 (全 25 頁)

(21) 出願番号 特願2000-168256 (P2000-168256)

(22) 出願日 平成12年4月27日 (2000.4.27)

(31) 優先権主張番号 1 9 9 1 9 8 1 4 . 4

(32) 優先日 平成11年4月30日 (1999.4.30)

(33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(31) 優先権主張番号 1 9 9 3 7 5 2 8 . 3

(32) 優先日 平成11年8月9日 (1999.8.9)

(33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(71) 出願人 500258813

ヘルマン ファウ、リリエンフェルトアル
ドイツ連邦共和国、ゲルンハウゼン、ヴィ
ルヘルム - シェファー - シュトラ
セ 33

(72) 発明者 ヘルマン ファウ、リリエンフェルトアル
ドイツ連邦共和国、ゲルンハウゼン、ヴィ
ルヘルム シェファー - シュトラ
セ 33

(74) 代理人 100066692

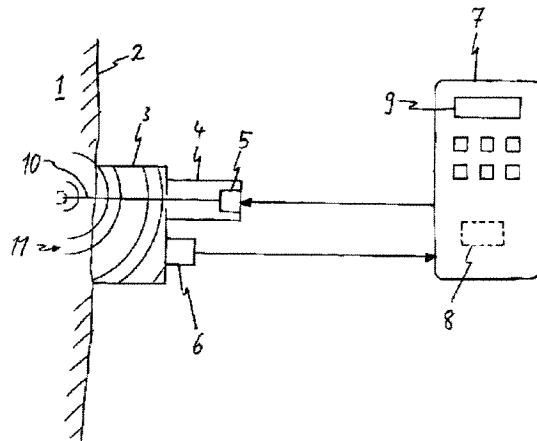
弁理士 浅村 皓 (外3名)

(54) 【発明の名称】 物質を検出する装置及び方法

(57) 【要約】

【課題】 サンプル中の物質の非侵襲性の検出を行うための、簡単でかつ信頼性のある装置及び方法を提供する。

【解決手段】 各々がサンプル内の物質の吸収スペクトルにおける異なった山あるいは谷において、少なくとも2つの個々の波長において、中間赤外線レーザー光10を放出するための半導体レーザー4、5を有している。光音響検出器3、6はレーザー光の吸収から発生する音響信号11を検出する。表示ユニット7は各々の波長に対して音響信号を分離的に評価し、異なった波長からの全ての音響信号に基づいた検出結果を計算する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 サンプル(1, 2)における物質を検出する装置において、
該サンプルの中を貫通する光ビーム(10)で該サンプルを照射するためのレーザー装置(4, 5)と、
該光ビームを吸収したことによってサンプル内に発生する音響信号(11)を検出するための音響検出器(3, 6)と、

前記検出された音響信号から物質の存在を示すために、
該音響検出器に連結された表示ユニット(7)とを具備し、

該レーザー装置が中間赤外線領域において、少なくとも2つの個々の波長の赤外線光を発生し、各々の波長はサンプル内の物質の吸収スペクトルにおいて異なった山または谷においてであり、前記表示ユニットが各々の前記個々の波長に関して検出された音響信号に基づいて物質の存在を示すことを特徴とする、物質を検出する装置。

【請求項2】 前記個々の波長が、前記吸収スペクトルの中で一つの山において一つの波長及び一つの谷において一つの波長を有している、請求の範囲第1項記載の物質を検出する装置。

【請求項3】 前記個々の波長が、前記吸収スペクトルの中で各々の山あるいは谷における少なくとも3つのはっきりした波長を有している請求の範囲第1項あるいは第2項記載の物質を検出する装置。

【請求項4】 前記レーザー装置(4, 5)が前記少なくとも2つの個々の波長を、サンプル(1, 2)内の同じ位置に対して、異なった時間に個々のレーザービームのパルスとして放出する、請求の範囲第1項から第3項のいずれか1項記載の物質を検出する装置。

【請求項5】 前記レーザー装置が、好ましくは量子井戸構造を有する半導体レーザー(5)を含んでいる、請求の範囲第1項から第4項のいずれか1項記載の物質を検出する装置。

【請求項6】 前記半導体レーザーが量子カスケードレーザーである、請求の範囲第5項記載の物質を検出する装置。

【請求項7】 前記表示ユニット(7)が、前記個々の波長のそれぞれにおける音響信号の大きさから、参照スペクトルに基づく最小二乗法によって、物質の濃度を計算するための計算装置手段(8)を有している、請求の範囲第1項から第6項のいずれか1項記載の物質を検出する装置。

【請求項8】 サンプル(1, 2)における物質を検出する方法において、
該サンプルの中を貫通する光ビーム(10)で該サンプルを照射することと、
該光ビームを吸収したことによってサンプル内に発生する音響信号(11)を検出することと、
前記検出された音響信号から前記物質の存在を示すこと

からなり、

前記レーザー光ビームが中間赤外線領域における少なくとも2つの個々の波長において発生され、各々の波長は前記サンプル内の物質の吸収スペクトルにおいて異なった山と谷においてであり、前記個々の波長のそれぞれに対して検出された音響信号に基づいて前記物質の存在が示されることを特徴とする、物質を検出する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はサンプルにおける物質(substance)を検出する装置及び方法に関するものであり、特に体液あるいは人体組織におけるグルコースのような物質の濃度を検出、測定するための装置および方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】インシュリンに依存する糖尿病患者は、規則正しい時間間隔で、その血液のグルコース濃度を監視する必要がある。現在においては、このことは血液サンプルを採取して、それを患者の体外において分析することによって通常行われている。自分の血液のグルコース値を自分で監視する患者は指ランセット(finger lance)を使って少量の血液を採取し、これを分析のために試薬片に加えられる。当然、この方法では痛みと不快が発生する。そのため血液のグルコース濃度を生体内で検出するための各種の試みがなされてきている。

【0003】EP-A-282234は、患者の皮膚を貫通するレーザービームを用いる赤外線分光法(infrared spectroscopy)によって、血液流中のグルコースを生体内で検出することを提案している。該レーザービームの波長は近赤外線領域(NIR)の0.76から2.5 μ mの中で選択される。

【0004】物理学・医学・生物学(Phys. Med. Biol.)の38(1993年)の1911頁-1922頁及び医療化学(Clinical Chemistry)45:9(1999年)の1587頁-1595頁において、H.A.マッケンジー(Mac Kenzie)他によって説明されたように、非侵襲性の血液中のグルコース測定のためには、近赤外線領域や、特に1 μ mから2 μ mの波長域が好ましく、それは血液との相互作用のために適当な深さにまで貫通する光に対して、人間の肌の中へ他の波長の光の吸収は大き過ぎるからである。医学・生物工学・計算機(Medical & Biological Engineering & Computing)の1993年5月号の284頁-290頁において、マッケンジー他はまた、グルコースの測定のために、2.5 μ mから25 μ mの中間赤外線(mid-infrared: MIR)の波長域の採用を報告している。しかし、これらの波長における皮膚伝達(skin transmission)

は非常に低いため、それらは生体内でグルコース濃度を測定していない。採用された中間赤外線光の光源はCO₂レーザーであり、グルコース濃度は、ある波長においてサンプル内の吸収係数を測定し、それを同一の波長における蒸留水の吸収係数と関連づけることにより得られる。

【0005】上述した従来技術においては、光学的な吸収係数は光音響効果(photoacoustic effect)を介して測定され、赤外線放射の光学的な吸収がグルコースにおける炭素と酸素の結合(C-O bonds)の振動モードのような分子共鳴に導き、非放射性の分子移行を介して下方遷移(de-excitation)が生じた時に、サンプルは局所的に加熱され、温度傾斜と材料の伸びが生じる。この伸びは音響センサーによって検出される。光のパルスからの材料の局部に制限された加熱と膨張によって、音響波のパルスが発生される。

【0006】生体内で測定する血液のグルコース値のための光音響検出器の使用がW091/18548に開示されている。この先行技術においては、MIR領域における2つの波長の赤外線光が2つの異なった位置において人間の皮膚に照射される。1つの波長は血液グルコースが特定の吸収を示すように選択され、他の波長はグルコースによる特定の吸収が存在しないように選択される。音響検出器は異なった波長の赤外線が照射された場所の間の差圧を検出する。

【0007】人間の指を介する赤外線伝達による血液中のグルコース値の測定のための簡単な装置がUS-5313941に開示されている。この装置はフィラメントによる赤外線源と、該源からある波長帯を選択するためのフィルターを取付けたシリコン光検出器とを用いている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】上述してきたどの技術も、グルコースの非侵襲性検出のための実際的に使用可能な装置にまでは到っていない。人間の皮膚を過度に加熱したり、あるいは焼いてしまったりすることなしに実際的に使用可能な赤外線の強度では、全ての既知の技術は感度がよくなく、また余り信頼性がなく、あるいは毎日の使用に対しては大き過ぎる。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明の目的はサンプル中の物質の非侵襲性検出(noninvasive detection)のための、簡単に信頼性のある装置及び方法を提供することにある。

【0010】この目的は特許請求の範囲の独立項において記載した装置および方法によって解決される。従属項は本発明の好の実施例を記載している。

【0011】グルコースのような重要な物質(substances of interest)は、光のスペ

クトルの中間赤外線領域において、即ち、2.5 μ mから25 μ mの波長(4000ないし400 cm^{-1} の波数)の赤外線光に対応した周波数において、基本の共鳴周波数を備える共有結合を有している。従って、これらの物質の吸収スペクトルの中間赤外線領域は、各々の個々の物質に対して特有の比較的狭い吸収線を含んでいる。このことは0.76 μ mから2.5 μ mの波長における近赤外線領域での使用に対し長所であり、重要な物質による赤外線吸収が振動している分子結合の高調波(harmonics)によるものであり、吸収帯がより広く、互いに重なり合い、より小さくてより巾広い山(peak)を有し、従って、吸収を検出しようとする物質に帰することがより困難になる。

【0012】今までは、体液あるいは人体組織におけるグルコースのような物質の中間赤外線分光法による非侵襲性の検出、即ち、水による中間赤外線光の高い寄生吸収(parasitic absorption)の欠点と考えられていたことは、請求項1によって、光音響効果による吸収の検出によって、また複数個の個々の波長(discrete wavelengths)におけるレーザー光を用いることによって克服される。

【0013】赤外線光吸収を検出するための光音響効果の使用は、サンプルによる光の吸収が高すぎて、伝達されたりあるいは反射された光から物質を検出することができない場合でも、非侵襲性技術によってサンプル内からの物質の検出を可能にするという長所を有している。

【0014】サンプル内の検出しようとする物質の吸収スペクトルにおける山あるいは谷(valley)における少なくとも2つのはっきりした個々の波長のレーザー光でサンプルを照射することは2つの効果を有している。第1に、これらは、吸収が余り波長変動およびサンプル内の未知の他の組成による吸収線における可能な移行に依存していない波長であるということである。第2に、広範囲の波長を放出する赤外線源を伴う従来の分光法におけるような、他の波長の光によるサンプルへの不必要な加熱を避けることができる。従って、許容される光の強度は最も正確な結果を与える個々の波長に集中することができる。

【0015】請求項2から請求項4までの特徴は検出の精度を改良する。請求項4によるサンプルの同一場所における測定はサンプルの非均一性からの誤差を避けている。

【0016】好ましいレーザー装置は、請求項5に記載したような量子井戸構造(quantum well structure)を有した半導体レーザーを有している。量子井戸構造は異なった半導体材料の層を変更することによって作られ、レーザーの操作のために副帯移行(sub-band transitions)が用いられる場合のエネルギーの副帯を形成する。該移行エネルギーは半導体材料と層の厚さに依存しており、本

発明の波長の要求に合致するように調節することができる。そのようなレーザー装置の一つは請求項6で記載された量子カスケードレーザー (quantum cascade laser) である。該量子カスケードレーザーについての説明はJ. フェイスト (Faist) による“量子カスケードレーザー”サイエンス、264号 (1994年) の553頁から556頁に記載されている。

【0017】請求項7は検出された物質の濃度の測定に關している。

【0018】

【発明の実施の形態】図1に示された装置は人体の組織1あるいは血液におけるグルコース濃度を生体内で検出及び測定するのに適している。該装置は人間の皮膚2の上に配置された空洞 (cavity) 3を有している。該空洞3にはレーザー装置4が取り付けられ、該装置には量子カスケードレーザー5が含まれている。また該空洞3にはマイクロホンとして作用する圧電変換器6が取り付けられている。

【0019】量子カスケードレーザー5と圧電変換器6はマイクロコントローラ (microcontroller) 8とディスプレイ9とを有する制御ユニット7に連結されている。

【0020】人体組織1内のグルコース濃度を検出および測定するため、制御ユニット7内のマイクロコントローラ8は量子カスケードレーザー5を駆動し、皮膚2を貫通して人体組織1の中へ入るレーザービーム10のパルスを放出する。レーザービーム10が人体組織1に吸収されると、該組織は局所的に加熱される。この局所加熱の結果熱膨張し、音響パルスが開始され、こうしてパルス状のレーザービーム10は、レーザービーム10が吸収された領域内で発生する音響信号11のパルス列 (pulse train) を導く。該パルス列11は空洞3の中へ進行し、圧電変換器6によって検出される。好ましくは、レーザービーム10のパルス周波数はコントローラ8によって、音響パルス11を増幅する空洞3の音響共振周波数に合致するように選択される。

【0021】マイクロコントローラ8は圧電変換器6によって検出された各々の音響パルス11のピーク対ピークの振幅 (peak to peak amplitude) を確定する。該ピーク対ピーク振幅は、人体組織1の中へ吸収されたレーザービームパルスのエネルギーの測定値である。好ましくは、マイクロコントローラ8は、パルスの走行時間に關連して、グルコースの濃度に関する有用な情報を期待することのできない人体組織1の一部分から生じる各音響パルスの一部分を捨てる。例えば、皮膚2の外層内のレーザービームの吸収から生じる音響信号を無視するために、各々の音響パルスの第1部分が捨てられ、ピーク対ピークの振幅がパルスのより後の部分から得られる。

【0022】MIRレーザー光ビーム10の波長は、吸収されたエネルギーが人体組織1におけるグルコース濃度に依存する場合の波長である。さらに、量子カスケードレーザー5に印加される電圧と電流は、所定の数のレーザービームパルスの後で変化され、レーザー5はこれもまた吸収がグルコース濃度に依存する場合の別の波長に調節される。このようにして、中間赤外線領域における少なくとも3つの異なった波長が連続的に走査される。好ましくは、選択される波長は山と谷における波長であり、即ち、人体組織、血液あるいは水におけるグルコースの吸収スペクトルの相対的な最大値及び最小値における波長である。

【0023】図2はグルコースの100、200、及び300mgに対し1dlの水 (即ち、0.1リットルの水) のグルコース水溶液の吸収スペクトルを示す。また蒸留水 (0mg/dlグルコース) の吸収スペクトルも示されている。図3は蒸留水の吸収スペクトルを除いた、各々のグルコース濃度のスペクトルを示している。従って、図3に示されたスペクトルは水環境におけるグルコースだけの吸収スペクトルである。図3からわかるように、最大吸収が生じるのは、例えば、波数1151、1105、1080、1036及び992 cm^{-1} においてである。また最小吸収になるのは波数1181、1140、1094、1066及び1014 cm^{-1} においてである。好ましくは、量子カスケードレーザー5は、各々の波数に対して多数のパルスで順次これらの波数全部を走査するように調節される。もし使用されているレーザーがこの領域全てについて調節することができなければ、この実施例におけるレーザー装置4は、各々の、好ましくは同一の画一的な装置 (monolithic device) 上で、特定の波長あるいは波長領域に対応する複数個のレーザーからなるように修正してもよいであろう。

【0024】前記マイクロコントローラ8は既知のグルコース濃度に対して図2あるいは図3に示されたような参照スペクトルを参考にして、最小二乗計算によって計算する。計算された濃度はディスプレイ9上に表示される。あるいはまた、グルコース濃度は、以前に確定された参照グルコース濃度の参照吸収に対する、各々の波長における吸収から得られた平均濃度からも計算できる。

【0025】好ましくは、前記マイクロコントローラ8は最小二乗計算の誤差、即ち、平均二乗誤差の平方根をも計算し、各々の音響パルスの部分のみを選択し、選択された波長のレーザービームパルスから発生するこれらの音響パルスを選択して、誤差を最小化する。このような選択は多くの予め準備された選択事項の中から、誤差がある値より小さくなるまで試行錯誤法によって選ばれる。このようにして、グルコース濃度の測定は、測定が最も信頼性のある組織1、たとえば、血管内の領域において焦点があてられる。

【0026】本実施例の測定原理はミルクのグルコース濃度を測定することで試験されている。ミルクは、それが容易に入手可能であり、また測定を潜在的に乱す可能性のある多数の物質が存在している血液と類似しているがゆえに、血液の代わりとしての試験溶液として用いられている。これらの物質は、例えば、ラクトーゼ、プロテイン、脂肪である。

【0027】図4には1dlあたり100mgのグルコースを有して、異った量の脂肪分、例えば、1.5、2.5、3.5%の脂肪を含有したミルクの吸収スペクトルと、蒸留水の吸収スペクトルを示している。図5は異った脂肪濃度のミルクにおける異ったグルコース濃度の溶液の吸収スペクトルを示しており、その各々からは1dlあたり0mgのグルコースで1.5%の脂肪の溶液のスペクトルは除去されている。このスペクトルはブルーカー社 (Bruker) によって生産されスペクトロメーター (spectrometer) によって得られる。

【0028】未知の溶液におけるグルコース濃度は、(図4、図5のような)既知のグルコース濃度のスペクトルから、吸収値を測定することにより、また部分最小二乗適合法 (partial least square fit: PLS) によって得ることができる。このPLS適合法はカールフリードリッヒガウス (Carl-Friedrich Gauss) によるアルゴリズムに基づいている。既知の濃度のスペクトルに基づいた標準曲線が、未知の溶液の測定値と標準曲線における対応する値との間の差の二乗の合計が最小になるように計算される。このようにして計算された標準曲線から濃度が得られる。

【0029】図4と図5のスペクトルは1181から960 cm^{-1} までの波数領域における、グルコース濃度測定に対して有益な吸収帯を有している。比較実験において、ある溶液の吸収値が測定され、図4あるいは図5のスペクトルを記録するために用いられてきた1181から960 cm^{-1} までのこれらの波数の全てにおいて、PLS適合法が採用された。そして、測定値の標準曲線からの標準偏差を示し、従ってグルコース濃度に対する予想誤差を示す交差検証法の平均二乗誤差の平方根 (root of mean square error of cross-validation: RMSECV) は3.44 mg/dl であった。しかしながら、測定溶液の全スペクトルを広範な波長領域において得ることは、測定時間とサンプル加熱に関して問題を提起した。

【0030】これらの問題を解決するために、赤外線吸収が本実施例によってある種の特定の波長においてのみ得られた。前記比較実験の他に、吸収が波数1151、1105、1080、1036、及び992 cm^{-1} において最大値が測定され、また1181 cm^{-1} において最小値が測定された時には、前記誤差 (RMSECV) は38.1 mg/dl である。

さらに最小値が波数1140、1094、1066、1014及び960 cm^{-1} において選択され、これらの最小値において測定された吸収が、前述した最大値と最小値において測定された吸収値と一緒にPLS適合法を使用されたときには、前記RMSECVの値は5.28 mg/dl でしかない。また、測定はサンプルを過度に加熱することなく、短時間の内に完了することができる。従って、吸収の測定に関して十分な数の最小値と最大値を選択することは、全てのスペクトルを使用することによって達成することのできる誤差に近い許容値内に誤差を維持することができ、しかも全スペクトルを使用することによる欠点を防ぐこともできる。

【0031】吸収帯幅の最大値あるいは最小値において個々の波長における吸収を測定することは、実際には、対応する吸収帯幅あるいは伝達帯幅よりも小さな帯幅を有する赤外線光ビームの吸収を測定することを意味している。好ましくは、光ビームの帯幅は、最大値あるいは最小値が測定される場合の吸収スペクトルの帯幅の2/3あるいは1/3を超えないはずである。

【0032】従って、本実施例は個々の複数の波長において、レーザー光を用いて光音響的に光吸収を測定し、グルコース濃度における最大の光音響効果を期待することができる。この光音響効果は、調査中に人体組織から光が再び可視的に漏れてこない場合でも、グルコースによる光の吸収測定を可能にする。また個々の波長を採用することは、これらの波長に十分なレーザービームの出力を集中させることができ、しかも他の余り好ましくない波長の照射による、人体組織の不必要な加熱を避けることができる。選択された波長において中間赤外線を、十分な強度ではあるが限定的な全体出力によって放出し、人体組織の加熱を防ぐことのできる好ましい装置は、量子井戸構造を有する半導体レーザーである。

【0033】これらの測定は非侵襲的検査とグルコース濃度の監視とを可能にする。従って、糖尿病患者は血液中のグルコース濃度を、彼ら自身によって短時間のうちに、都合よく監視することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】人体組織あるいは血液中のグルコースを生体内で検出し測定するための装置を示す図である。

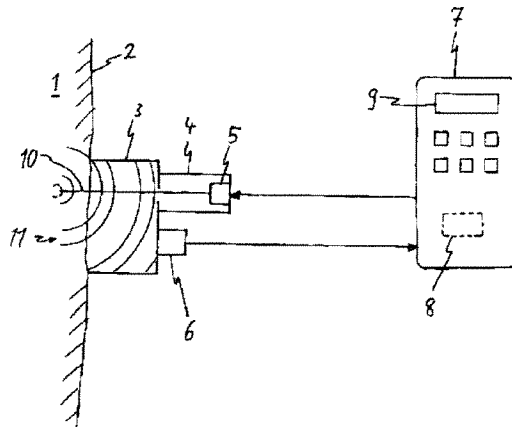
【図2】異った濃度のグルコース水溶液の吸収スペクトルと、蒸留水の吸収スペクトルとを示すグラフである。

【図3】蒸留水のスペクトルを除いた、図2のグルコース溶液のスペクトルを示すグラフである。

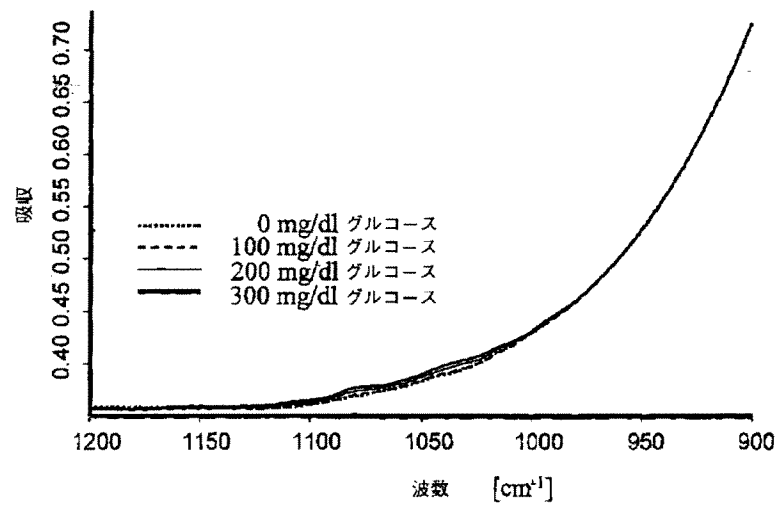
【図4】異った濃度のグルコースと脂肪を含有したミルクの吸収スペクトルと、蒸留水の吸収スペクトルとを示すグラフである。

【図5】グルコースなしのミルクの吸収スペクトルを除いた、異った濃度のグルコースと脂肪を含有したミルクの吸収スペクトルを示すグラフである。

【図1】

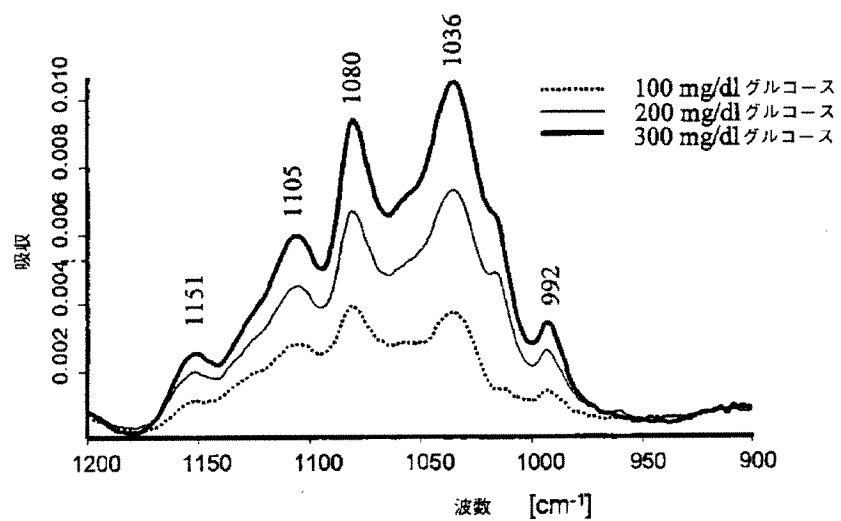


【図2】

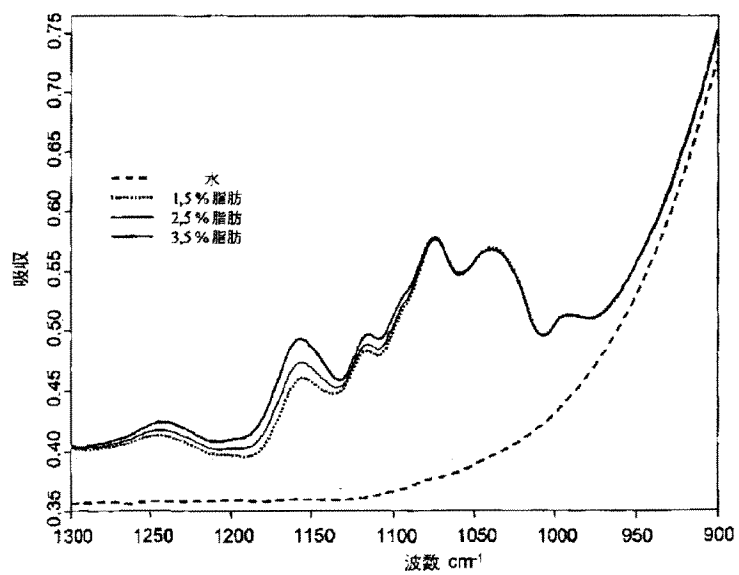


水中のグルコース

【図3】

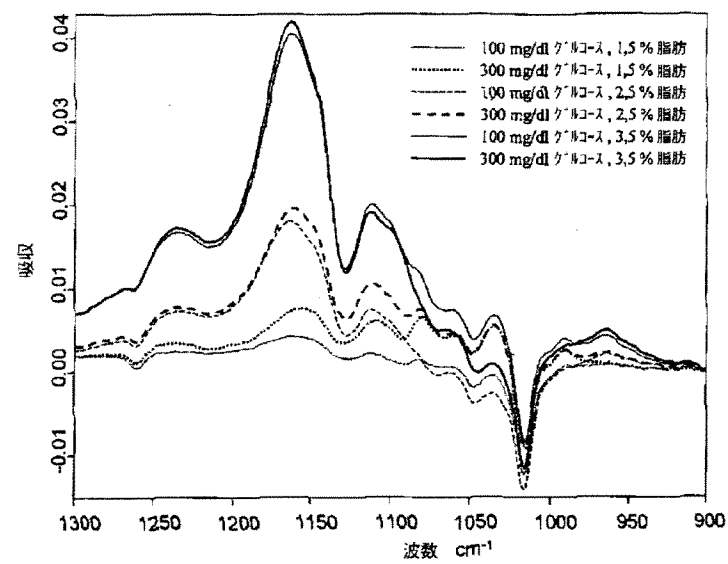


【図4】



(8) 開2001-25465 (P2001-2P"yA)

【図5】



ミルク中のグルコース

【 外国語明細書 】

1 Title of Invention

Apparatus and method for detecting a substance

2 Claims

1. An apparatus for detecting a substance in a sample (1,2), comprising:

a laser device (4,5) for irradiating the sample with a light beam (10) which penetrates into the sample,

an acoustic detector (3,6) for detecting acoustic signals (11) originating within the sample from absorption of the light beam, and

an indication unit (7) coupled to the acoustic detector for indicating the presence of the substance from the detected acoustic signals,

characterised in that the laser device generates infrared light of at least two discrete wavelengths in the mid-infrared region, each wavelength at a different peak or valley in the absorption spectrum of the substance in the sample, and that the indication unit indicates the presence of the substance based on acoustic signals detected for each of said discrete wavelengths.

2. An apparatus according to claim 1, wherein said discrete wavelengths include one at a peak and one at a valley in the absorption spectrum.

3. An apparatus according to claim 1 or 2, wherein said discrete wavelengths include at least three distinct wavelengths each at a peak or valley in the absorption spectrum.

4. An apparatus according to any of claims 1 to 3, wherein said laser device (4,5) emits said at least two discrete wavelength as individual laser beam pulses at different times to the same location of the sample (1,2).

5. An apparatus according to any of claims 1 to 4, wherein the laser device includes a semiconductor laser (5) preferably having a quantum well structure.

6. An apparatus according to claim 5, wherein the semiconductor laser is a quantum cascade laser.

7. An apparatus according to any of claims 1 to 6, wherein said indication unit (7) includes calculating means (8) for calculating the concentration of the substance from the amplitude of the acoustic signal at each of said discrete wavelengths by a least square method based on a reference spectrum.

8. A method for detecting a substance in a sample (1,2) comprising the following steps:

irradiating the sample with a laser light beam (10) which penetrates into the sample,

detecting acoustic signals (11) originating within the sample from absorption of the laser light beam, and

indicating the presence of the substance from the detected acoustic signals,

wherein said laser light beam is generated at at least two discrete wavelengths in the mid-infrared region, each wavelength at a different peak or valley in the absorption spectrum of the substance in the sample, and the presence of the substance is indicated based on the acoustic signal detected for each of said discrete wavelengths.

3 Detailed Description of Invention

The invention relates to an apparatus and a method for detecting a substance in a sample, particularly for detecting and measuring the concentration of a substance such as glucose in body fluid or tissue.

Insulin dependent diabetics have to monitor their blood glucose concentrations at regular intervals. At present, this is mostly done by taking a blood sample and analysing it outside the patient's body. Patients who monitor their blood glucose level themselves use a finger lance to obtain a drop of blood which is applied to a reagent strip for analysing. Naturally this process causes pain and discomfort. There have been various attempts, therefore, to detect blood glucose concentrations in vivo.

EP-A-232234 proposes in vivo detection of glucose in the blood stream by infrared spectroscopy using a laser beam penetrating a person's skin. The wavelength of the laser beam is selected in the near-infrared (NIR) range of 0.75 to 2.5 μ m.

As explained by H.A. Mac Kenzie et al. in Phys. Med. Biol. 38 (1993) 1911-1922 and in Clinical Chemistry 45:9 (1999) 1587-1595, the near-infrared range and in particular the wavelength region of 1 to 2 μ m is preferred for non-invasive blood glucose measurement as the absorption of light of

other wavelengths in the human skin is too large for the light to penetrate to a suitable depth for interaction with blood. In Medical & Biological Engineering & Computing, May 1993, 284 to 290, Mac Kenzie et al. report also the use of the mid-infrared (MIR) wavelength region of 2.5 to 25 μm for glucose measurements. But due to the very low skin transmission at these wavelengths, they have not measured glucose concentrations in vivo. The mid-infrared light source used is a CO_2 laser and the glucose concentration is obtained by measuring the absorption coefficient in the sample at a certain wavelength and relating it to the absorption coefficient of distilled water at the same wavelength.

In the above-discussed prior art, the optical absorption coefficient is measured through the photoacoustic effect: optical absorption of infrared radiation leads to molecular resonance such as vibrational modes of C-O bonds in glucose; when de-excitation occurs through nonradiative molecular transitions, the sample is locally heated, producing a temperature gradient and a material strain. The strain can be detected by an acoustic sensor. Localised heating and expansion of the material from a pulse of light produces a pulse of an acoustic wave.

The use of a photoacoustic detector for in vivo measuring blood glucose levels is disclosed in WO 91/18548. In this prior art, infrared light of two wavelengths in the MIR region is applied at two different locations to a person's skin. One wavelength is selected such that blood glucose shows a specific absorption and the other wavelength is selected such that there is no specific absorption by glucose. An acoustic detector detects the pressure difference between the locations where the different wavelengths are applied.

A simple arrangement for measuring blood glucose levels by infrared transmission through a person's finger is disclosed in US-5313941. This arrangement uses a filament infrared source and silicon photodetectors with filters to select a certain wavelength band from the source.

None of the above techniques has yet led to a practically usable device for noninvasive detection of glucose. At

infrared intensities which are practically usable without unduly heating or even burning a person's skin, all the known techniques are not sensitive and reliable enough or are too bulky for daily use.

It is an object of the invention to provide a simple and reliable apparatus and method for noninvasive detection of a substance in a sample.

This object is solved by the apparatus and the method set forth in the independent claims. The dependent claims are directed to preferred embodiments of the invention.

Substances of interest such as glucose have covalent bonds with fundamental resonance frequencies in the mid-infrared region of the light spectrum, i.e. at frequencies corresponding to infrared light wavelengths from 2.5 to 25 μm (wavenumbers of 4000 to 400 cm^{-1}). Hence, the mid-infrared region of the absorption spectrum of these substances contains relatively narrow absorption lines specific to each individual substance. This is an advantage over the use of the near infrared region at wavelengths from 0.76 to 2.5 μm where infrared absorption by the substances of interest is due to harmonics of the oscillating molecular bonds and absorption bands are broader, overlap each other, have smaller and wider peaks and it is thus more difficult to attribute absorption to the substance to be detected.

What was previously believed a disadvantage of noninvasive detection of substances such as glucose in body fluids or tissue by mid infrared spectroscopy, namely the high parasitic absorption of mid infrared light by water is overcome in accordance with claim 1 by detecting absorption through the photoacoustic effect and by using laser light at a plurality of discrete wavelengths.

The use of the photoacoustic effect for detecting infrared light absorption has the advantage of enabling detection of the substance in a noninvasive technique from within a sample even if light absorption by the sample is too high to allow detecting the substance from transmitted or reflected light.

Irradiating the sample with laser light of at least two distinct and discrete wavelengths at a peak or valley in the absorption spectrum of the substance to be detected in the sample has two effects. Firstly, these are the wavelengths where the absorbance is less dependent on wavelength variations and on a possible shift in the absorption lines due to unknown other components in the sample. Secondly, unnecessary heating of the sample by light of other wavelengths such as in conventional spectroscopy with infrared sources emitting a broad range of wavelengths is avoided. The admissible light intensity can therefore be concentrated on the discrete wavelengths which offer the most accurate results.

The features of claims 2 to 4 improve the accuracy of the detection. A measurement at the same location of the sample in accordance with claim 4 avoids errors from sample inhomogeneities.

A preferred laser device includes a semiconductor laser having a quantum well structure as set forth in claim 5. Quantum well structures are made by alternating layers of different semiconductor material and form energy sub-bands wherein sub-band transitions are used for operation of the laser. The transition energy depends on the semiconductor material and on the layer thickness and can be adjusted to meet the wavelength requirements of the invention. One such laser device is the quantum cascade laser mentioned in claim 6. A description of the quantum cascade laser can be found in J.Faist: "Quantum Cascade Laser" Science, 264 (1994) 553 to 556.

Claim 7 relates to the measurement of the concentration of the detected substance.

The apparatus shown in Fig. 1 is suitable for detecting and measuring in vivo the glucose concentration in a person's body tissue or blood. It includes a cavity 3 which is placed on a person's skin 2. Attached to the cavity 3 is a laser device 4 including a quantum cascade laser 5. Also attached to the cavity 3 is a piezoelectric transducer 6 acting as a microphone.

The quantum cascade laser 5 and the piezoelectric transducer 6 are connected to a control unit 7 comprising a microcontroller 8 and a display 9.

To detect and measure the glucose concentration in the body tissue 1, the microcontroller 8 in the control unit 7 drives the quantum cascade laser 5 so as to emit pulses of a laser beam 10 which penetrate the skin 2 and enter the body tissue 1. Where the laser beam 10 is absorbed in the body tissue 1, the tissue is locally heated. The thermal expansion resulting from the localised heating initiates an acoustic pulse and the pulsed laser beam 10 thus leads to a pulse train of acoustic signals 11 which originates in the region where the laser beam 10 is absorbed. The pulse train 11 propagates into the cavity 3 and is detected by the piezoelectric transducer 6. Preferably, the pulse frequency of the laser beam 10 is selected by the controller 8 so as to meet the acoustic resonance frequency of the cavity 3 which thus amplifies the acoustic pulses 11.

The microcontroller 8 determines the peak-to-peak amplitude of each acoustic pulse 11 detected by the piezoelectric transducer 6. The peak-to-peak amplitude is a measure of the absorbed energy of the laser beam pulse in the body tissue 1. Preferably, the microcontroller 8 discards a portion of each acoustic pulse which, in accordance with the travelling time of the pulse, originates from a portion of the body tissue 1 where no useful information on the glucose concentration is expected. For example, to disregard acoustic signals originating from absorption of the laser beam in the outer layers of the skin 2, the first part of each acoustic pulse is discarded and the peak-to-peak amplitude is obtained from later portions of the pulse.

The wavelength of the MIR laser light beam 10 is one where the absorbed energy depends on the glucose concentration in the body tissue 1. Moreover, the voltages and currents applied to the quantum cascade laser 5 are changed after a predetermined number of laser beam pulses so as to tune the laser 5 to a different wavelength where the absorbance depends again on the glucose concentration. In this manner, at least three different wavelengths in the mid-infrared

range are sequentially scanned. Preferably, the selected wavelengths are at peaks and valleys, i.e. at relative maxima and minima of the absorption spectrum of glucose in body tissue, blood or water.

Fig. 2 shows absorption spectra of aqueous glucose solutions with 100, 200 and 300 mg glucose per dℓ water (i.e. per 0.1 ℓ water). Also shown is the absorption spectrum of distilled water (0 mg/dℓ glucose). Fig. 3 shows each spectrum of the glucose concentrations with the spectrum of distilled water subtracted. Thus, the spectra shown in Fig. 3 are those of glucose alone in a water environment. As can be seen from Fig. 3, absorption maxima occur at wavenumbers of 1151, 1105, 1080, 1036 and 992 cm^{-1} for example. And absorption minima occur at wavenumbers of 1181, 1140, 1094, 1066 and 1014 cm^{-1} . Preferably, the quantum cascade laser 5 is tuned to scan through all these wavenumbers one after the other with a number of pulses for each wavenumber. If the laser used cannot be tuned over this range, the laser device 4 of this embodiment could be modified to include a plurality of lasers each for a specific wavelength or wavelength range, preferably on the same monolithic device.

The microcontroller 8 calculates the glucose concentration by a least square calculation referring to reference spectra such as shown in Fig. 2 or 3 for known glucose concentrations. The calculated concentration is displayed on display 9. Alternatively, the glucose concentration could also be calculated from an average of concentrations obtained from the absorptions at each wavelength relative to a reference absorption for a reference glucose concentration determined beforehand.

Preferably, the microcontroller 8 calculates also the error of the least square calculation, i.e. the root of mean square error and makes a selection of only portions of each acoustic pulse and a selection of those acoustic pulses which originate from laser beam pulses of selected wavelengths so as to minimise the error. The selection can be chosen by trial and error among a number of pre-prepared selections until the error is smaller than a certain value. Thereby, the measurement of the glucose concentration focuses on an area within the tissue 1 where the measurement is most reliable, for example a blood vessel.

The measurement principle of the present embodiment has been tested in the measurement of glucose concentrations in milk. Milk has been used as a testing solution instead of blood because it is readily available and resembles blood in that a number of substances are present which could potentially disturb the measurement. These substances are e.g. lactose, proteins and fat.

The absorption spectra of milk with 100 mg glucose per dl but different amounts of fat, namely 1.5, 2.5 and 3.5 percent fat are shown in Fig. 4 together with the absorption spectrum of distilled water. Fig. 5 shows absorption spectra of solutions with different glucose concentrations in milk of different fat concentrations, after a spectrum of a solution with 0 mg glucose per dl and 1.5 percent fat has been subtracted from each of them. The spectra have been obtained with a spectrometer made by Bruker.

The glucose concentration in an unknown solution can be obtained from spectra of known glucose concentrations (such as Figs. 4 and 5) by measuring absorbance values and by a partial least square fit (PLS). The PLS fit is based on an algorithm by Carl-Friedrich Gauss: A standard curve based on spectra of known concentrations is calculated such that the sum of the squared differences between the measured values of the unknown solution and the corresponding values in the standard curve is minimised. The concentration is derived from the thus calculated standard curve.

The spectra of Figs. 4 and 5 include absorption bands useful for glucose concentration measurements in the wavenumber region from 1181 to 960 cm^{-1} . In a comparative experiment, absorbance values of a solution were measured and taken for the PLS fit at all those wavenumbers from 1181 to 960 cm^{-1} which have been used for recording the spectra of Fig. 4 or 5. Then, the root of mean square error of cross-validation (RMSECV) which indicates the standard deviation of the measured values from the standard curve and thus indicates the prediction error for the glucose concentration was 3.44 mg/dl. However, obtaining the entire spectrum of the measured solution in a broad wavelength region caused problems with measurement duration and sample heating.

To overcome these problems, the infrared absorbance is obtained in accordance with the present embodiment at certain distinct wavelengths only. When, other than in the comparative experiment, absorbance is measured only at maxima with wavenumbers of 1151, 1105, 1080, 1036 and 992 cm^{-1} and at a minimum at 1181 cm^{-1} , the error (RMSECV) is 38.1 mg/dl. When further minima are selected at 1140, 1094, 1066, 1014 and 960 cm^{-1} and the absorbance measured at these minima is used for the PLS fit together with the absorbance values measured at the maxima and minima mentioned before, the RMSECV value is only 5.28 mg/dl. And the measurement can be completed in a short time without unduly heating the sample. Hence, selecting a sufficient number of minima and maxima for the absorbance measurement can maintain the error at a tolerable value close to the error achievable by using the entire spectrum, but still avoids the disadvantages of using the entire spectrum.

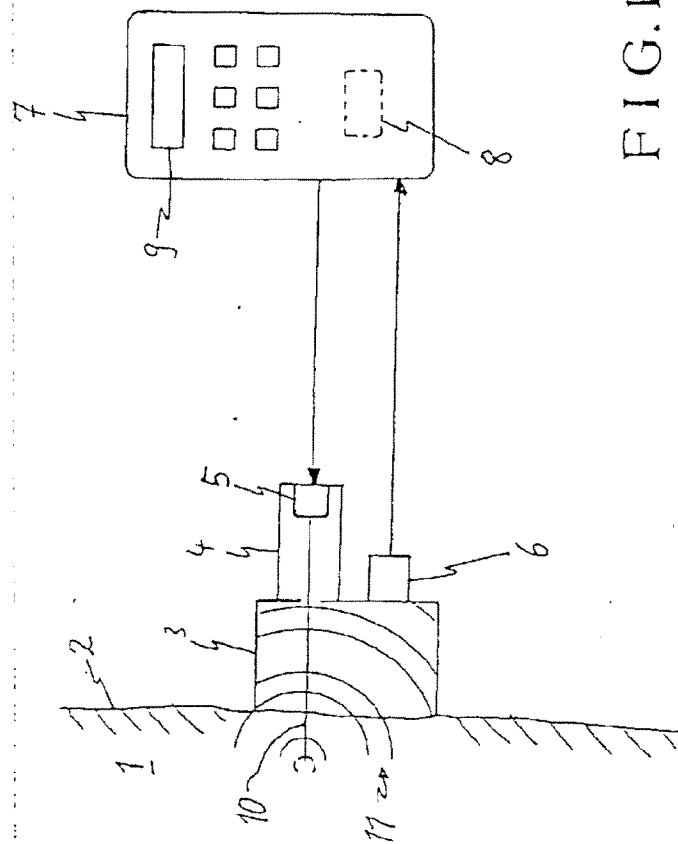
Measuring the absorbance at discrete wavelengths at maxima or minima of absorption bands means in practice to measure the absorbance of an infrared light beam having a bandwidth smaller than the width of the corresponding absorption or transmission band. Preferably, the bandwidth of the light beam should not exceed $2/3$ or $1/3$ the width of the band of the absorption spectrum where the minimum or maximum is measured.

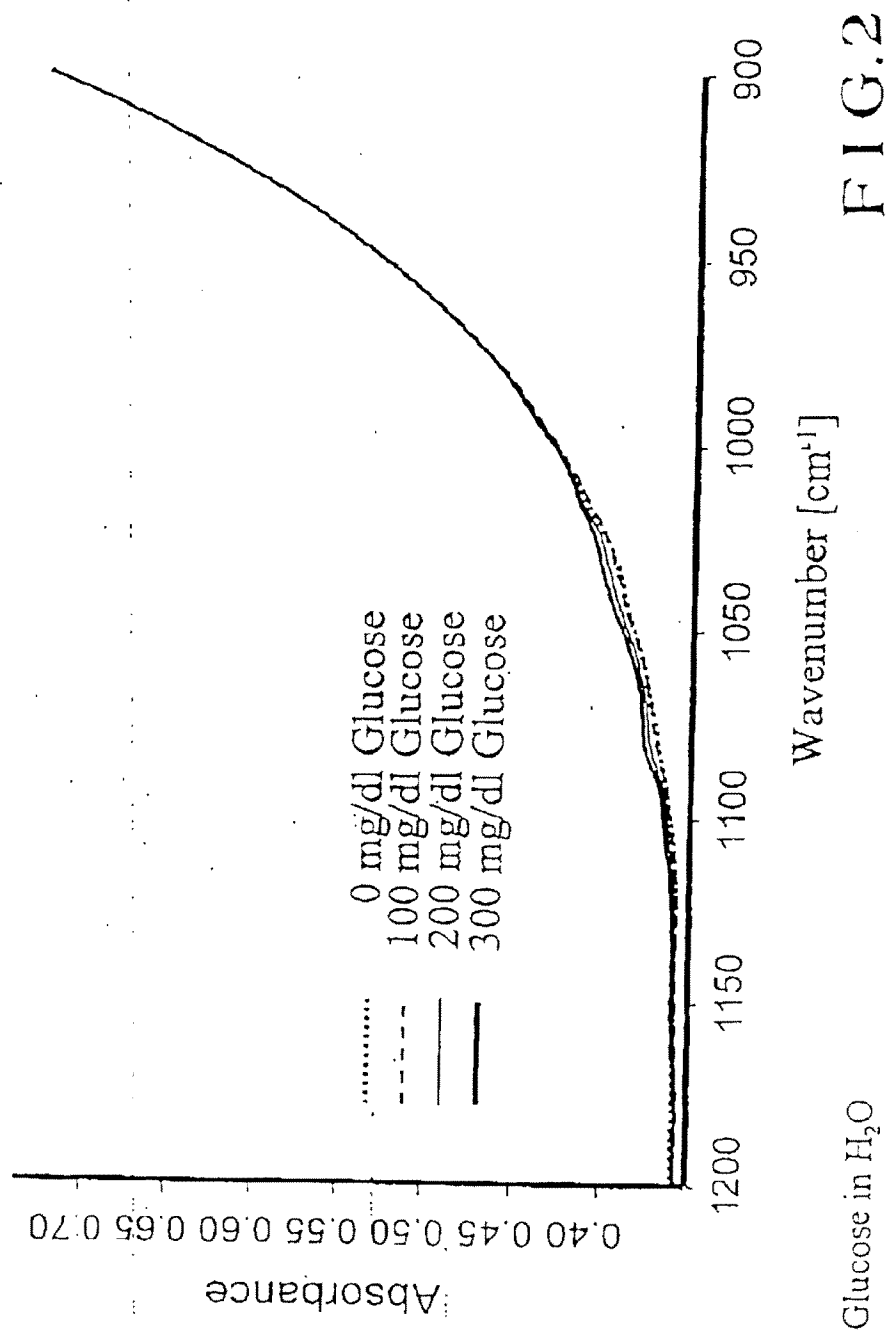
Hence, the embodiment measures light absorption photoacoustically with laser light at a plurality of discrete individual wavelengths where the largest photoacoustic effect on the glucose concentration is expected. The photoacoustic effect allows measurement of the light absorbance by glucose even where virtually no light escapes again from the body tissue under investigation. And the use of discrete wavelengths allows sufficient laser beam power concentrated to these wavelengths while avoiding unnecessary heating of the body tissue through irradiation with other less favourable wavelengths. The preferred device for emitting the mid-infrared radiation at selected wavelengths, with sufficient intensity but limited overall power so as to avoid overheating of the body tissue is a semiconductor laser having a quantum well structure.

These measures allow noninvasive testing and monitoring of glucose concentrations. Hence, diabetics can conveniently monitor their blood glucose concentrations themselves at short intervals.

4 Brief Description of Drawings

- Figure 1 shows an apparatus for detecting and measuring glucose in vivo in a person's body tissue or blood,
- Figure 2 shows absorption spectra of aqueous glucose solutions of different concentrations, and an absorption spectrum of distilled water,
- Figure 3 shows the glucose solution spectra of Figure 2 with the spectrum of distilled water subtracted,
- Figure 4 shows absorption spectra of milk with glucose and with fat in various concentrations, and an absorption spectrum of distilled water, and
- Figure 5 shows absorption spectra of milk with glucose and fat in different concentrations with the absorption spectrum of milk without glucose subtracted.





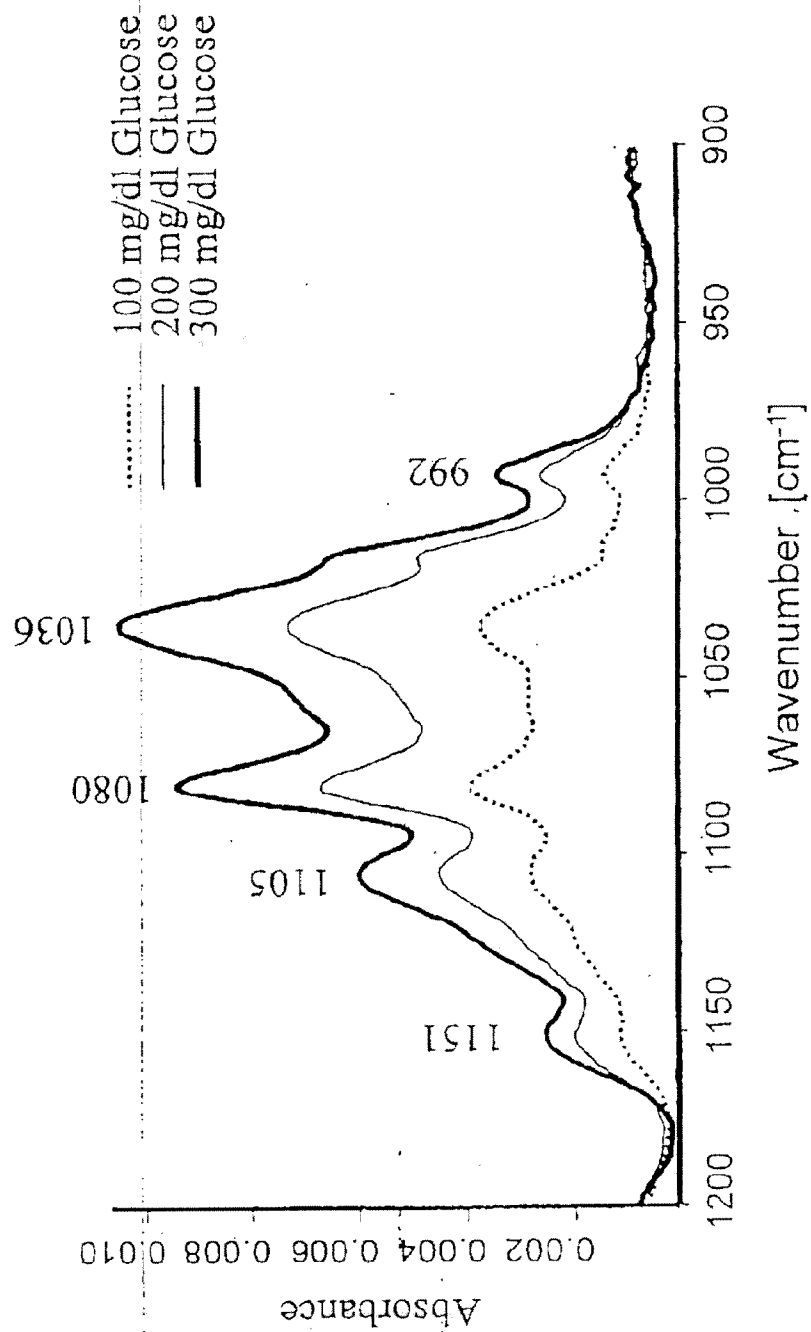


FIG.3

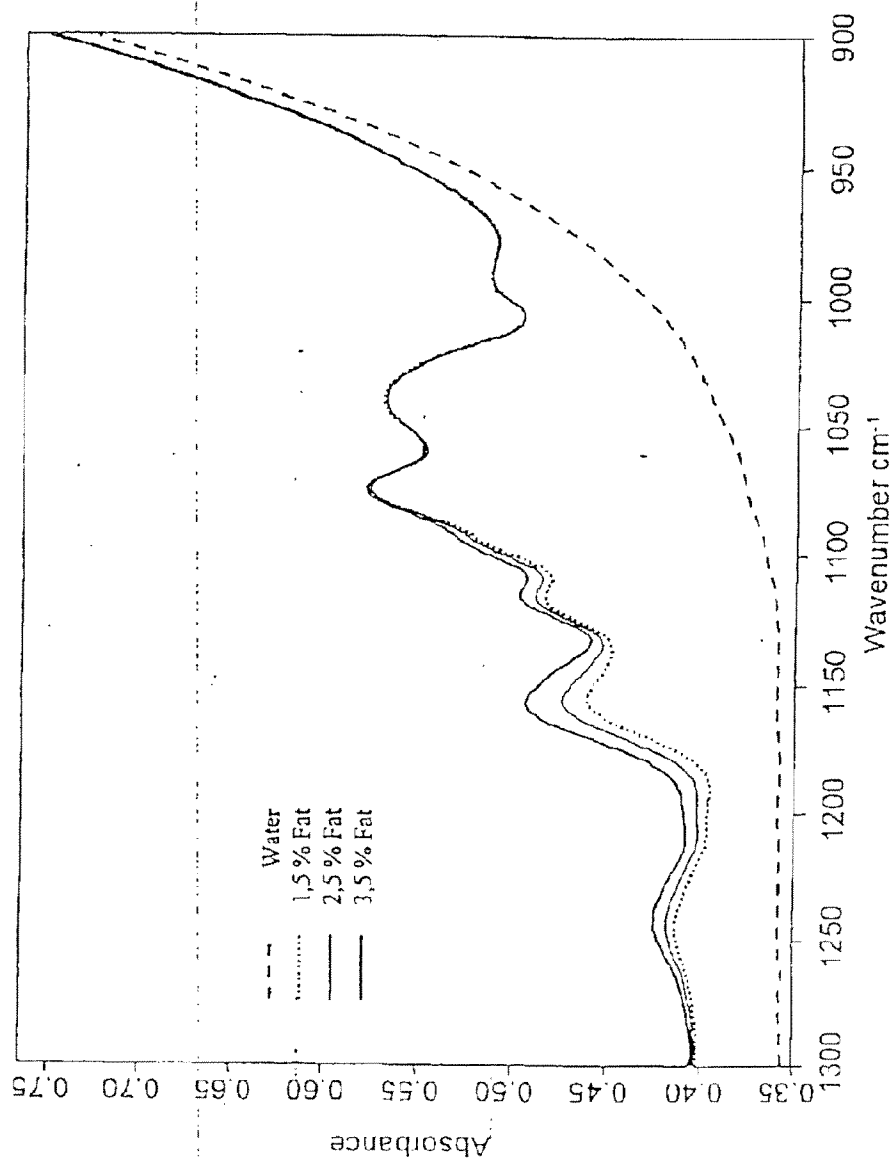


FIG.4

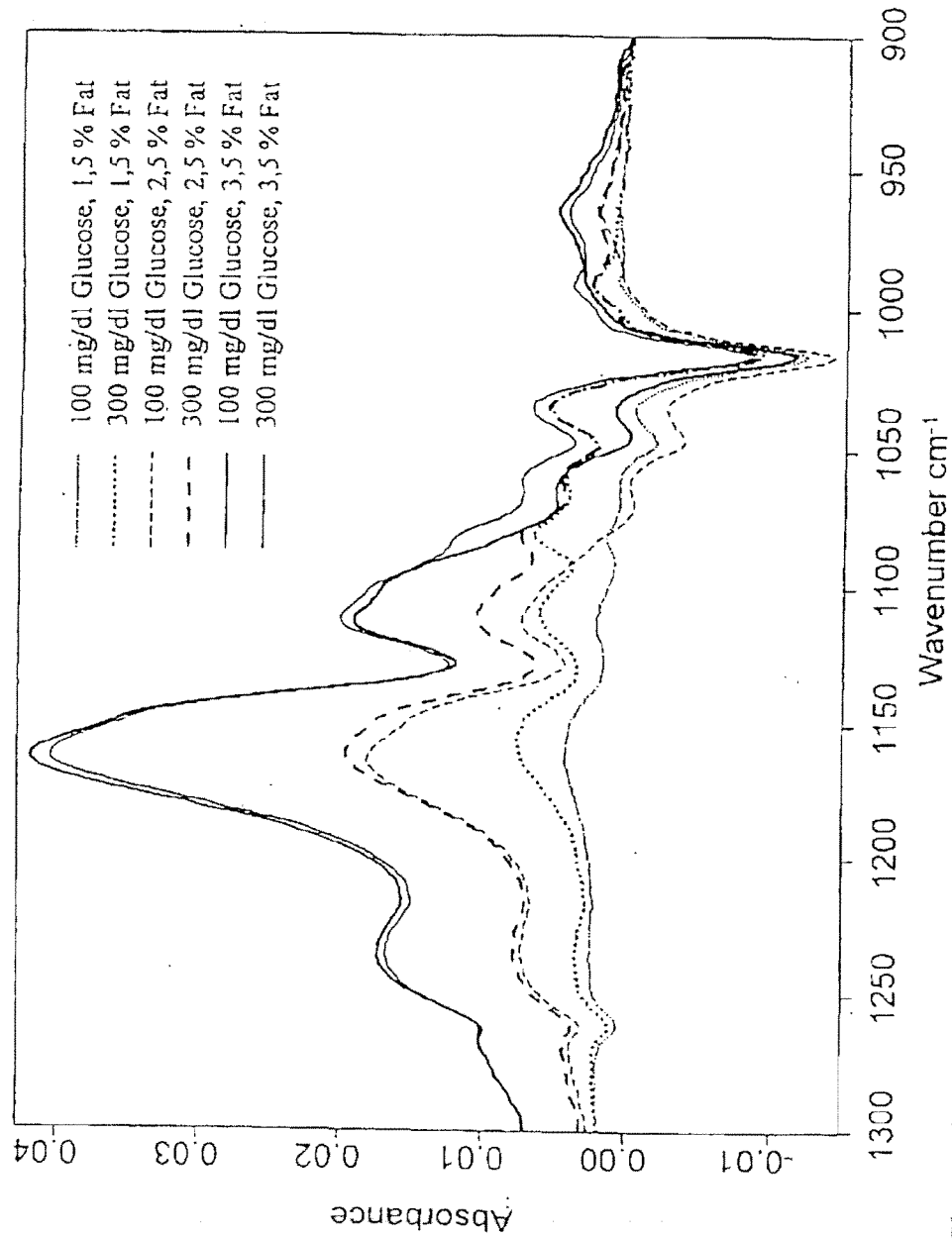


FIG.5

1 Abstract

An apparatus for detecting a substance in a sample, particularly for in vivo detecting and measuring glucose in body tissue or blood contains a semiconductor laser (4,5) for emitting mid-infrared laser light (10) at at least two discrete wavelengths, each at a different peak or valley in the absorption spectrum of the substance in the sample. A photoacoustic detector (3,6) detects acoustic signals (11) originating from absorption of the laser light. An indication unit (7) evaluates the acoustic signals separately for each wavelength and calculates a detection result based on all acoustic signals from the different wavelengths.

2 Representative Drawing

Fig. 1